

Zur Frage einer Hemmbarkeit des Wachstums  
tiertransplantabler Tumoren  
durch spezifisches Anti-Tumor-Serum

von  
Sieglinde Haag  
aus Crailsheim



AUS DER ABTEILUNG FÜR KLINISCHE IMMUNOLOGIE DES UNIVERSITÄTS-  
KRANKENHAUSES

ERLANGEN-NÜRNBERG

Vorstand: Professor Dr. med. F. Scheiffarth

---

ZUR FRAGE EINER HEMMBARKEIT DES WACHSTUMS TIERTRANSPLANTABLER  
TUMOREN DURCH SPEZIFISCHES ANTI-TUMOR-SERUM

INAUGURAL - DISSERTATION

zur

ERLANGUNG DER DOKTORWÜRDE

der

HOHEN MEDIZINISCHEN FAKULTÄT

der

FRIEDRICH-ALEXANDER-UNIVERSITÄT

zu

ERLANGEN - NÜRNBERG

vorgelegt von  
Sieglinde Haag  
aus Crailsheim

Gedruckt mit Erlaubnis der Medizinischen Fakultät  
der Universität Erlangen-Nürnberg



Dekan: Professor Dr. med. E. Wetterer

Referent: Professor Dr. med. F. Scheiffarth

Tag der mündlichen Prüfung: 2. Juli 1968

## INHALTSVERZEICHNIS

|                                        | Seite   |
|----------------------------------------|---------|
| Einleitung                             | 1       |
| Untersuchungsgut und Versuchsanordnung | 2 - 9   |
| Ergebnisse                             | 10 - 15 |
| Diskussion                             | 16 - 18 |
| Zusammenfassung                        | 19      |
| Literaturverzeichnis                   | 20 - 22 |



Digitized by the Internet Archive  
in 2026

[https://archive.org/details/IA41546214\\_0031](https://archive.org/details/IA41546214_0031)

Auf Grund tierexperimenteller Versuche an tumortragenden Ratten ( 5, 6 ) konnte gezeigt werden, daß unter dem Einfluß eines spezifischen Anti-Tumorserums das Intervall bis zum Angehen frisch inokulierter Tumorzellen, sowie die gesamte Überlebenszeit der tumortragenden Tiere im Vergleich zu nichtvorbehandelten Ratten verlängert werden, eine Beobachtungstatsache, die im einschlägigen Schrifttum - bei vielfach unterschiedlicher Versuchsanordnung - immer wieder ihre Bestätigung findet ( 2b ). Mit hoher Wahrscheinlichkeit handelt es sich bei diesen Phänomenen nicht um immunologisch bedingte Effekte, sondern um ein unspezifisches biologisches Geschehen, das unter dem Einfluß einer aktiven Sensibilisierung durch ein heterologes Antikörper-Trägerserum vor sich gehen konnte. Ähnliche Zusammenhänge sind aus der Humanpathologie bzw der klinischen Medizin bekannt, wobei z.B. in Fällen eines metastasierenden Malignoms unter dem Einfluß eines Infektes die weitere Ausbreitung von Metastasen vorübergehend retardiert wird.

In vorliegender Arbeit sollte an verschiedenen Versuchsgruppen geprüft werden, ob allein ein Fremdserum denselben tumorhemmenden Effekt wie ein spezifisches, im heterologen Sensibilisierungsversuch gewonnenes Anti-tumorserum zu bewirken vermag.

## I. UNTERSUCHUNGSGUT UND VERSUCHSANORDNUNG

Es wurden insgesamt 30 Ratten des Stammes WISTAR Hannover mit einem durchschnittlichen Gewicht von 200 g in Versuch genommen. Für die Gewinnung von Tumorextrakt bzw des Zellsubstrats für die Transplantation wurde YOSHIDA - Sarkom<sup>+</sup> gewählt, welches als ratten-transplantabel deklariert war.

Die Tiere wurden in zwei Gruppen aufgeteilt, wovon die eine 10, die andere 20 Ratten umfaßte. Gruppe A war für die aktiven Sensibilisierungsversuche mit frischem Serum unbehandelter Kaninchen, Gruppe B für die Behandlung mit spezifischen Anti - Yoshida - Serum vom Kaninchen bestimmt ( Sensibilisierungs- bzw Applikationsmodi siehe Methodik ).

Prinzipiell wurde den Tieren jeder Gruppe vor Versuchsbeginn in üblicher Weise aus der Schwanzvene Blut für die Ausgangswerte entnommen. Kontrolluntersuchungen des Serums der Versuchstiere erfolgten in Gruppe A lediglich am Ende des Versuches, bzw zu dem Zeitpunkt, zu dem einzelne Tiere zu Grunde zu gehen drohten. In der Gruppe B wurden aber auch zwischenzeitliche Kontrollen vorgenommen ( Abb.: 1 ).

---

<sup>+</sup> Tumortragende Tiere wurden uns von Herrn Dr. GERICKE, Farbwerke Hoechst, freundlicherweise zur Verfügung gestellt.

Die entsprechenden Seren wurden zur Analyse der Serumeiweißkörper papierelektrophoretisch aufgetrennt, mit Amidoschwarz 10 B gefärbt und auf Grund ihrer unterschiedlichen Anfärbbarkeit in relativen Prozentsätzen bestimmt und statistisch ausgewertet. Weiterhin erfolgte die immunoelktrophoretische Differenzierung der Serumproteine. Schließlich wurden die Tierseren auf unspezifisch, mit Tumorextrakt reagierende Antikörper, und zwar sowohl auf agglutinierende, als auch auf präzipitierende Antikörper geprüft ( siehe auch Abb.: 1 ).

Für die Gewinnung eines spezifischen Anti - Yoshida - Serums wurden 2 Kaninchen mit je einem Körpergewicht von ca. 2000 g mit dem Homogenat des Yoshida-Sarkoms sensibilisiert. Im einzelnen kamen folgende Methoden zur Anwendung:

## II. METHODISCHES

Im nachfolgenden wird zunächst die Methode abgehandelt, die für sämtliche Versuchsgruppen in gleicher Weise eingesetzt wurde. Anschließend werden die Zusatzmethoden aufgeführt, die speziell für die eine oder andere Tiergruppe in Frage kamen.

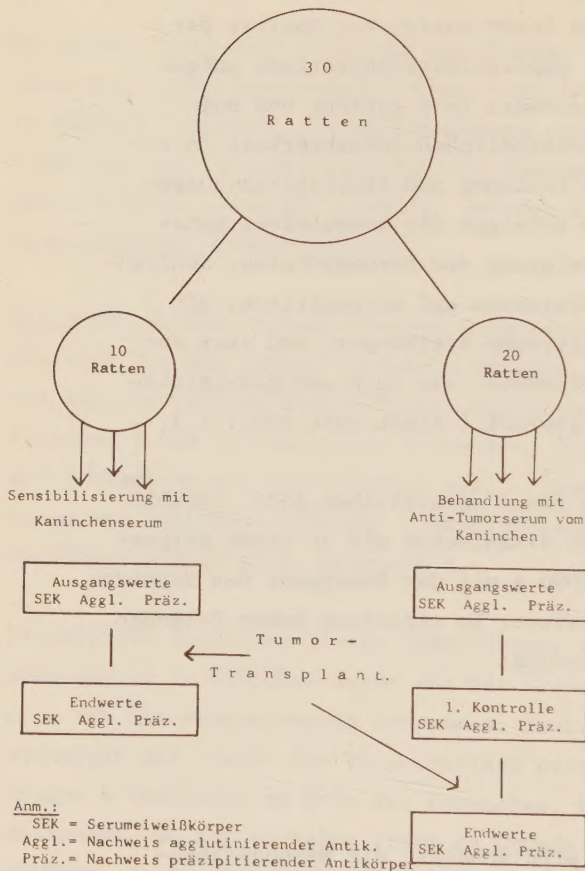


Abb.: 1 gibt eine Übersicht über die Versuchsanordnung

## 1. Aufbereitung des Tumors

### a) Gewinnung von Tumorphomogenat zur Sensibilisierung

Für die Nachweisreaktionen auf spezifische Tumorantikörper gegen YOSHIDA - Sarkom wurde das maligne Gewebe des transplantablen Tumors in folgender Weise aufbereitet:

Nekrosefreies Tumorgewebe wurde sorgfältig von Bindegewebe gesäubert und grob zerkleinert, im Verhältnis 1 : 4 mit physiologischer Kochsalzlösung versetzt und im Ultra - Turrax - Zerstäuber\* ( 15000 Upm ) homogenisiert und bei 15000 Upm 30 Minuten bei  $+4^{\circ}\text{C}$  zentrifugiert. Der Überstand wurde sorgfältig abpipettiert und auf einen Eiweißgehalt von 0,5% eingestellt. Das gleiche Homogenat wurde zur Sensibilisierung der 2 Kaninchen verwendet zur Gewinnung von Antikörpern.

---

\* Herstellerfirma JANKE & SCHOLTAN

## b) Gewinnung von Tumor-Zellsuspension zur Transplantation

Für die Herstellung der Zellsuspension wurden nekrosefreie Tumoren aus dem umgebenden makroskopisch unveränderten Gewebe von Trägartieren sorgfältig herauspräpariert, weitgehend von Bindegewebe befreit, grob zerkleinert, mit einigen ml physiologischer Kochsalzlösung vermischt und durch die Embryonenpresse getrieben. Die auf diese Weise gewonnene Zellsuspension wurde nochmals im Verhältnis 1 : 4 mit physiologischer Kochsalzlösung verdünnt, gut gemischt und appliziert.

## 2. Papierelektrophorese

Die Trennung der Serumeiweißkörper erfolgte auf Papier nach der Methode von GRASSMANN und HANNIG ( 4 ).

Die papierelektrophoretisch gewonnenen relativen Pro-zente wurden nach den Angaben von LINDER ( 7 ) statistisch ausgewertet.

### 3. Passive Hämagglutinationsreaktion nach BOYDEN ( 1 )

Prinzip: Die passive Hämagglutination beruht auf der Möglichkeit, entigenwirksame Substanzen in geeigneter Form an die Oberfläche von tanninbehandelten Erythrozyten zu adsorbieren. Die so sensibilisierten Erythrozyten gehen bei Zugabe des spezifischen Immunserums eine Agglutination ein. Zur Bestimmung der Titerhöhe stellt man eine geometrische Verdünnungsreihe her. Als Antigene wurden Kaninchenserum sowie Tumorhomogenat, als Immunserum, das Serum der verschieden behandelten Ratten verwendet. Somit wurde jedes einzelne Rattenserum gegen Tumor und Kaninchenserum getestet.

### 4. Zweidimensionale Immunodiffusion im Agargel zum Nachweis präzipitierender Antikörper

Hier wurde nach der grundlegenden Methode von OUCHTERLONY ( 8 ) vorgegangen. Angesetzt wurde für jeden Untersuchungsgang Rattenserum gegen Kaninchenserum unbehandelter Tiere, sowie gegen Antitumorserum vom Kaninchen.

## 5. Immunoelektrophorese

Im Prinzip handelt es sich bei der Immunoelektrophorese um die Kombination von Elektrophorese und Präzipitation von immunologisch korrespondierenden Substanzen im Gelmilieu, wobei im einzelnen z.B. ein Antigen in einem mit Puffer versetzten Agar - Agar - Gel elektrophoretisch aufgetrennt und anschließend an der Längsseite des Agarstreifens die spezifische Antikörpersuspension zugeführt wird. An den Berührungsstellen von Antigen und Antikörper entstehen durch gegenseitige Diffusion, als Ausdruck der erfolgten Antigen - Antikörper - Reaktion, Präzipitationslinien. Methodisch wurde nach dem klassischen Verfahren von GRABAR und WILLIAMS ( 3 ) in der Modifikation von SCHEIDEGGER ( 9 ) vorgegangen. Die Versuchsanordnung entspricht hier den Angaben im Schema ( Abb.:2, Abb.:3 ).

## 6. Applikationsschemata für die Sensibilisierung von Ratten mit Kaninchenserum, respektive Anti-Tumor-Serum vom Kaninchen, sowie für die Sensibilisierung von Kaninchen mit Tumorhomogenat ( Abb.:4 )

### a) Gruppe A

Die 10 Ratten dieser Gruppe erhielten pro Tier und Injektion jeweils 0,5 ml des klaren Kaninchensersums intraperitoneal appliziert. Die Injektionen erfolgten jeden zweiten Tag, insgesamt

10. Ratten: Gruppe A

Anti - R

R (Anti - K)

K - Serum (A:igen)

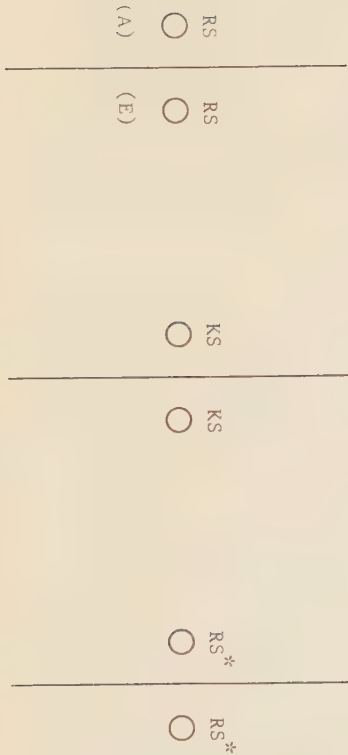
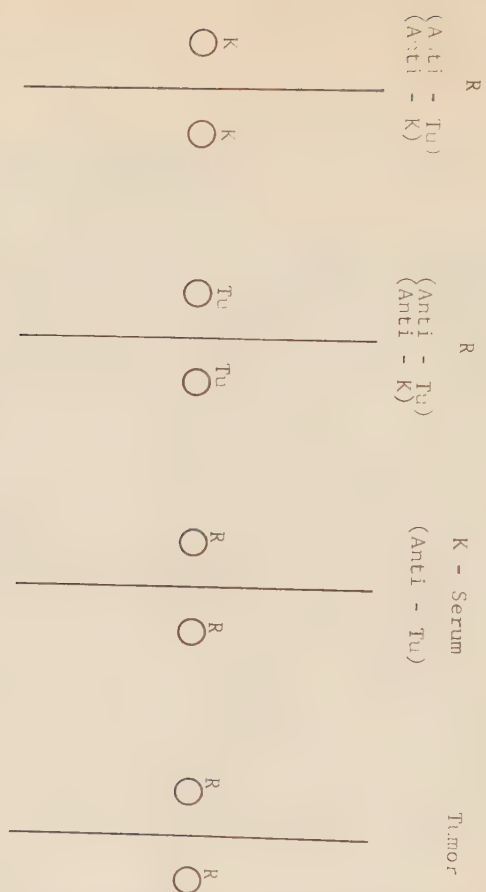


Abb.: 2 Schema zur Versuchsanordnung der immunoelektrophoretischen Analysen der Tiergruppe A



20 Tiere Gruppe 3

Abb.: 3 Schema zur Versuchsanordnung der immuno-  
elektrophoretischen Analysen der Tier-  
gruppe B

zunächst 6 mal über 12 Tage seit Sensibilisierungsbeginn. Nach der 6. Injektion wurde transplantiert. Die Applikation des Kaninchenserums wurde unmittelbar über weitere 12 Tage nach gleichem Schema fortgesetzt. Die Serumkontrollen erfolgten bei jedem Tier ante finem.

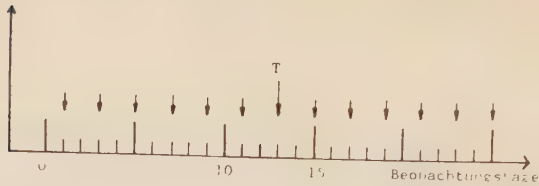
#### b) Gruppe B

Spezifisches Anti - Tumor - Serum wurde durch eine Injektionsserie mit Tumorhomogenat an insgesamt 2 Kaninchen gewonnen. Tumorhomogenat ( siehe 1a ) wurde im Verhältnis mit FREUND'schem Adjuvans<sup>+</sup> verdünnt und jedem Kaninchen von dieser Emulsion 2 x 2 ml intramuskulär injiziert, in der weiteren Folge in zweitägigen Abständen je eine subcutane Injektion von 1 ml des reinen Homogenates ( ohne FREUND'sches Adjuvans ) über insgesamt 3 Wochen verabreicht. Eine intramuskuläre Injektion wie oben ( Emulsion mit FREUND'schem Adjuvans ) erfolgte noch 2 mal in jeweiligem 7-tägigen Abstand ( siehe auch Abb.: 4 ). Nach einem völlig injektionsfreien Intervall von 16 Tagen bekamen beide Kaninchen nochmals je 2 x 3,5 ml einer Emulsion von 4 ml Tumorhomogenat und 10 ml FREUND'schem Adjuvans intramuskulär appliziert, da bis zu diesem Zeitpunkt

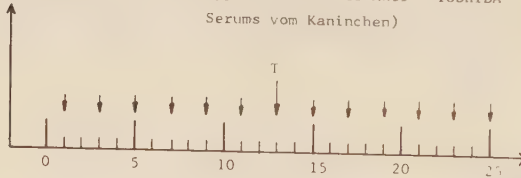
---

<sup>+</sup> DIFCO-BACTO FREUND adjuvans complete ,  
Detroit/Michigan

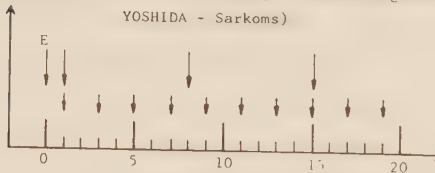
Gruppe A: 10 Ratten (Sensibilisierung mit Kaninchenserum)



Gruppe B: 20 Ratten (Applikation eines Anti - YOSHIDA - Serums vom Kaninchen)



Kaninchen: (Sensibilisierung mit dem Homogenat eines YOSHIDA - Sarkoms)



T = Tumortransplantation

E = Emulsion aus Tumorphomogenat und Freund'schem Adjuvans

Abb.: 4 Applikationsschemata für die Sensibilisierung von Ratten mit Kaninchenserum, respektive Anti-Tumorsorum vom Kaninchen, sowie Tumorphomogenat

noch keine genügend hochtitrigen Tumor - Anti - Seren erzielt waren. Die optimale Antikörperbildung ergab sich, gemessen am Ausmaß der Präzipitationsreaktion nach weiteren 2 Tagen, zum Zeitpunkt der 5. Kontrolle.

Die Behandlung der 20 Ratten der Gruppe B mit dem Anti - Tumor - Serum vom Kaninchen entspricht dem Sensibilisierungsplan der Gruppe A ( mit reinem <sup>A</sup>Kaninchenserum ) ( siehe auch Abb.: 4 Mitte ). Eine erste Kontrolluntersuchung der Rattenserum erfolgte am Tage vor der Transplantation von Tumorzellsuspension, eine weitere Kontrolle wurde ante finem vorgenommen.

## 7. Transplantationstechnik

Zur Transplantation wurde jedem der 30 Tiere 1 ml der Zellsuspension von transplantablem YOSHIDA - Sarkom ( siehe 1b ) in die Nackenmuskulatur injiziert.

## ERGEBNISSE

### I ERGEBNISSE DER GRUPPE A

#### 1) Verhalten der Serumeiweißkörper

Die statistisch berechneten Relativprozente der Serumeiweißkörper vor Versuchsbeginn, sowie die von den gleichen Tieren am Ende des Versuches bzw ante finem ermittelten papierelektrophoretischen Befunde sind in Tabelle 1 wiedergegeben. Die jeweiligen Mittelwerte der einzelnen Fraktionen wurden unter Berücksichtigung der statistischen Forderungen auf die Signifikanz ihrer Mittelwertsdifferenzen geprüft. Dabei ließ sich feststellen, daß die Endwerte der Serumeiweißkörper eine tiefgreifende Dysproteinämie aufweisen mit signifikanter Abnahme des Albumins und der  $\gamma$ -Globuline, sowie mit signifikanter Zunahme der  $\alpha_2$ -Globulin-, der  $\alpha_2/\beta$ - und der  $\beta$ -Globulin-Fractionen ( Tab.: 1 ) ( Abb.: 5 und 6 ).

#### 2) Hämagglutinationsreaktion

Die passive Hämagglutinationsreaktion ergab bei Verwendung der Serum der unbehandelten Tiere weder mit den tumorextraktbeladenen, noch mit den mit Kaninchenserum inkubierten Hammelerythrozyten eine positive Reaktion. Die am Ende des Versuches vorgenom-

GRUPPE A

| n  |   |              | Albu-<br>mine | G l o b u l i n e |            |                  |         |          |
|----|---|--------------|---------------|-------------------|------------|------------------|---------|----------|
|    |   |              |               | $\alpha_1$        | $\alpha_2$ | $\alpha_2/\beta$ | $\beta$ | $\gamma$ |
| 10 | A | M            | 39,79         | 16,13             | 7,54       | 5,53             | 16,27   | 14,75    |
|    |   | $\sigma^\pm$ | 1,91          | 2,21              | 1,51       | 0,66             | 1,56    | 2,24     |
|    | E | M            | 24,97         | 17,55             | 14,29      | 14,22            | 20,49   | 8,48     |
|    |   | $\sigma^\pm$ | 5,31          | 2,94              | 1,79       | 3,56             | 3,27    | 1,66     |
|    | t |              | 8,31          | 1,22              | 9,05       | 7,42             | 3,68    | 7,19     |

Tab.: 1 mit normalem Kaninchenserum behandelte Ratten

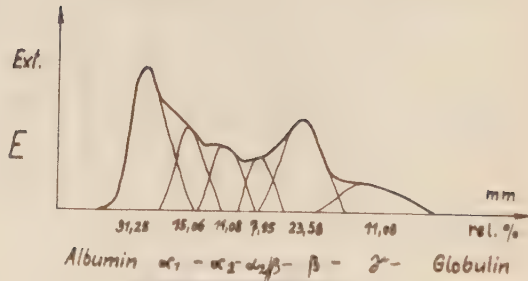
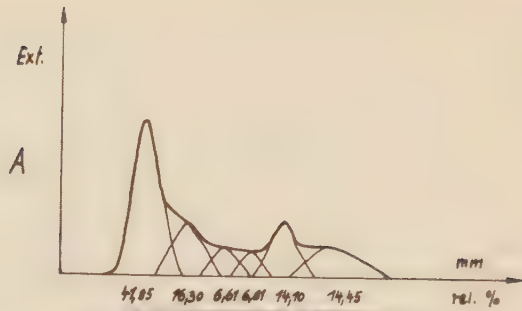


Abb.: 5 zeigt die papierelektrophoretischen Befunde einer Ratte aus Gruppe A vor Versuchsbeginn (oben), sowie am Ende des Versuchs (unten)

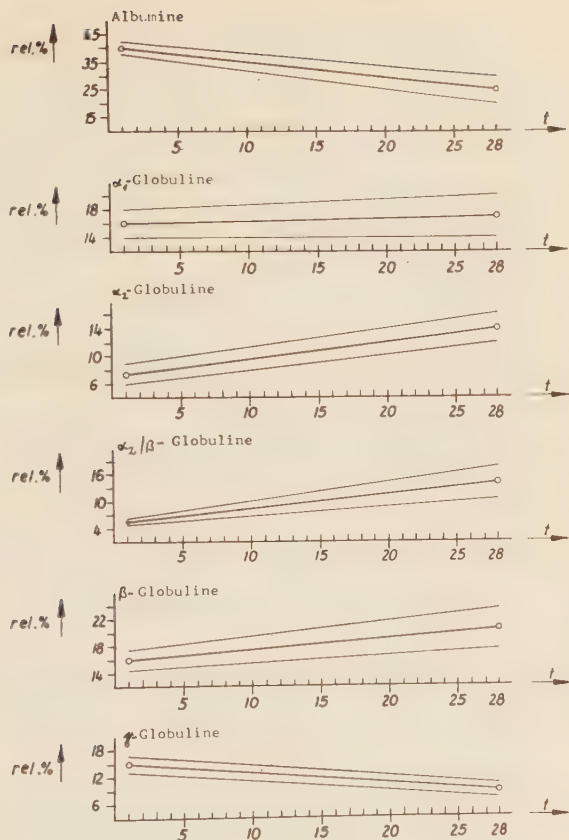


Abb.: 6 Verhalten der Serumweißkörper von Tieren der Gruppe A ( statistische Auswertung )

mene passive Hämagglutinationsreaktion ergab: mit Tumorphomogenat als Antigen in keinem Fall eine verwertbar positive Agglutination, bei Verwendung des Kaninchenserums als Antigen in allen Fällen stark positive Agglutinationsreaktionen mit Titern bis zu 1 : 1024 ( siehe Tab.: 2 ).

### 3) Zweidimensionale Immunodiffusion nach OUCHTERLONY

Bei vergleichendem Ansatz von Ausgangs- und Endwerten, d.h. der Rattenserum vor Versuchsbeginn und am Ende des Versuches, jeweils gegen das zur Sensibilisierung verwendete Kaninchenserum ( Abb.:7 ) ergab sich gegen die Ausgangswerte in keinem Fall eine Präzipitation, gegen die Endwerte eine deutliche Reaktion mit Nachweis bis zu 4 Eiweißsystemen.

Bei gleichem Ansatz ließ sich unter Verwendung des Tumorextraktes bei keinem Tier und zu keinem Zeitpunkt während des Versuches eine eindeutige Präzipitationsreaktion nachweisen ( Abb.: 7 ).

Nach längerem Stehen und Versetzen der OUCHTERLONYschalen mit 2%iger Essigsäure konnte gegen die Ausgangswerte in 2 Fällen von den 10 im Versuch stehenden Ratten je eine schwache Präzipitationslinie aufgezeigt werden. Am Ende des Versuches waren diese mit denselben Rattenserum gegen den Tumorextrakt nicht mehr nachweisbar.

TABELLE

|    | KANINCHENSERUM |          | TUMORHOMOGENAT |         |
|----|----------------|----------|----------------|---------|
|    | Ausgang        | Endwert  | Ausgang        | Endwert |
| 1  | Ø              | 1 : 512  | Ø              | Ø       |
| 2  | Ø              | 1 : 1024 | Ø              | Ø       |
| 3  | Ø              | 1 : 512  | Ø              | Ø       |
| 4  | Ø              | 1 : 512  | Ø              | 1 : 16  |
| 5  | 1 : 16         | 1 : 512  | Ø              | Ø       |
| 6  | Ø              | 1 : 1024 | Ø              | Ø       |
| 7  | Ø              | 1 : 1024 | Ø              | 1 : 4   |
| 8  | Ø              | 1 : 1024 | 1 : 8          | Ø       |
| 9  | Ø              | 1 : 256  | Ø              | Ø       |
| 10 | Ø              | 1 : 512  | Ø              | Ø       |

Tab.: 2 Passive Hämagglutinationsreaktion,  
links: gegen Kaninchenserum  
rechts: gegen Tumorhomogenat

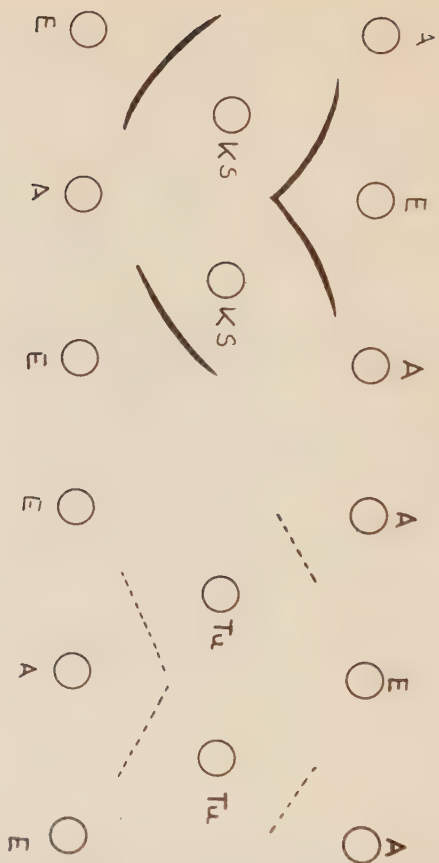
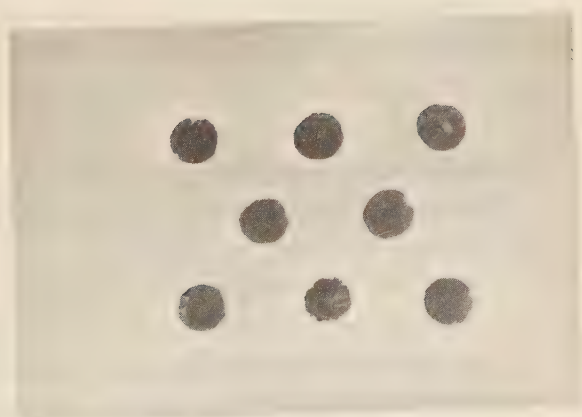


Abb.: 7 Zweidimensionale Immunodiffusion nach OUCHTERLONY bei Ansatz der Rattenserum gegen das normale Impferum vom Kaninchen und gegen Tumorphomogenat



4) Die immunoelektrophoretische Analyse ( s.Abb.: 2 )

Die immunoelektrophoretische Analyse zeigte an den Seren der tumortragenden Ratten im Vergleich zu deren Ausgangswerten lediglich Intensitätsunterschiede einzelner Präzipitationen, somit also quantitative Relationsunterschiede, jedoch keine qualitativen Besonderheiten, vor allem keine atypischen Proteine..

Bei Analyse der Rattenserum nach Sensibilisierung konnte nachgewiesen werden, daß die gegen Kaninchenserum gebildeten Antikörper ( vergleiche OUCHTERLO-NYtest ) vorwiegend im Bereich der  $\gamma_2$ -Globuline auspräzipitierten. Es konnten 3 (4) sichere solcher Präzipitate in diesem Bereich differenziert werden.

5) Beobachtungen an den Transplantaten, sowie Verhalten der Tiere während der Versuche

Die Tiere der Gruppe A, welche nach der 6. Injektion mit reinem Kaninchenserum, YOSHIDA - Sarkomzellen in die Nackenmuskulatur appliziert wurden, ließen zwischen dem 4. und 5. Tag post transplantationem ein Angehen der Zellen erkennen, d.h. man tastete zu diesem Zeitpunkt einen umschriebenen

kleinkirschkerngroßen Tumor. Bis zum 12. Tag post transplantationem waren die Tumoren durchschnittlich bis auf Walnußgröße herangewachsen. Jetzt begannen die Ratten an Gewicht abzunehmen, sich zu haaren, ihre Freßlust einzustellen und insgesamt ihre Agilität zu vermindern. Am 14. Tag gingen 7 und am 15. Tag 3 der im Versuch stehenden Ratten ein.

## II ERGEBNISSE DER GRUPPE B

### 1) Verhalten der Serumeiweißkörper

Die von den 20 Tieren der Gruppe B in relativ Prozentsen ermittelten Ausgangswerte der Serumeiweißkörper sind in Tabelle 2 wiedergegeben. Die jeweiligen Mittelwerte der einzelnen Fraktionen wurden wiederum unter Berücksichtigung der statistischen Forderungen auf die Signifikanz ihrer Mittelwertdifferenzen geprüft. Die papierelektrophoretischen Befunde einer Kontrolle am Tage vor der Tumortransplantation und am Ende des Versuches, bzw ante finem, sind statistisch ausgewertet worden und in Tabelle 2 zu finden. Dabei zeigte sich schon bei den Werten der ersten Kontrolle der Serumeiweißkörper eine Dysproteinämie mit signifikanter Abnahme der Albumine, sowie signifikanter Zunahme der  $\alpha_2/\beta$ - und der  $\beta$ -Globulin-Fraktionen; die  $\alpha_1$  und  $\gamma$ -Globulin-Fraktionen

waren nicht signifikant verschieden. Die Dysproteinämie verstärkte sich weiter bei den Endwerten der Serumweißkörper und zwar mit signifikanter Abnahme der Albumine und signifikanter Zunahme der  $\alpha_1$ -,  $\alpha_2$ -, der  $\alpha_2/\beta$ - und der  $\beta$ -Globulin-Fraktionen (s.auch Tab.3) ( Abb.: 8 Ø).

## 2) Hämagglutinationsreaktion

Bei Verwendung der Seren der unbehandelten Tiere zeigte die passive Hämagglutinationsreaktion in keinem Fall eine bewertbare positive Reaktion. Die Hämagglutinationsreaktion zur Zeit der ersten Kontrolle, am Tag vor der Tumortransplantation ergab: mit Tumorextrakt als Antigen keine Agglutination, mit Anti-Tumor-Serum vom Kaninchen als Antigen in allen Fällen stark positive Agglutination mit Titern bis 1 : 1024 ( Tab.: 4 ). Die am Ende des Versuches vorgenommene Hämagglutinationsreaktion zeigte ebenfalls nur bei Verwendung des Anti-Tumor-Serums vom Kaninchen als Antigen stark positive Agglutinationen mit Titern bis 1 : 1024 ( Tab.: 4 ).

## 3) Zweidimensionale Immunodiffusion im Agargel nach OUCHTERLONY

Bei vergleichendem Ansatz von Ausgangs-, Kontroll- und Endwerten, d.h. der Rattenserum vor Versuchsbeginn, vor Tumortransplantation und am Ende des Versuches, jeweils gegen das zur Sensibilisierung verwendete Anti-Tumor-Serum vom Kaninchen ( Abb.: 10 ) ergab sich gegen die Ausgangswerte in keinem Fall

GRUPPE B

| n  |       |               | Albu-<br>mine | G l o b u l i n e |            |                  |         |          |
|----|-------|---------------|---------------|-------------------|------------|------------------|---------|----------|
|    |       |               |               | $\alpha_1$        | $\alpha_2$ | $\alpha_2/\beta$ | $\beta$ | $\gamma$ |
| 20 | A     | M             | 45,58         | 13,54             | 6,41       | 4,97             | 15,30   | 13,69    |
|    |       | $\bar{6} \pm$ | 3,83          | 2,82              | 1,85       | 1,50             | 1,35    | 1,79     |
|    | K     | M             | 36,76         | 12,91             | 9,05       | 9,37             | 18,24   | 13,67    |
|    |       | $\bar{6} \pm$ | 4,80          | 2,26              | 2,10       | 4,22             | 1,43    | 1,53     |
|    | E     | M             | 30,24         | 16,71             | 9,72       | 6,93             | 22,70   | 13,67    |
|    |       | $\bar{6} \pm$ | 6,88          | 3,44              | 2,14       | 1,16             | 2,49    | 3,09     |
|    | t A/K |               | 6,43          | 0,77              | 4,22       | 4,51             | 6,69    | 0,038    |
|    | t A/E |               | 8,72          | 3,27              | 5,23       | 3,69             | 11,67   | 0,025    |

Tab.: 3 mit Anti-Tumorserum vom Kaninchen behandelte Ratten

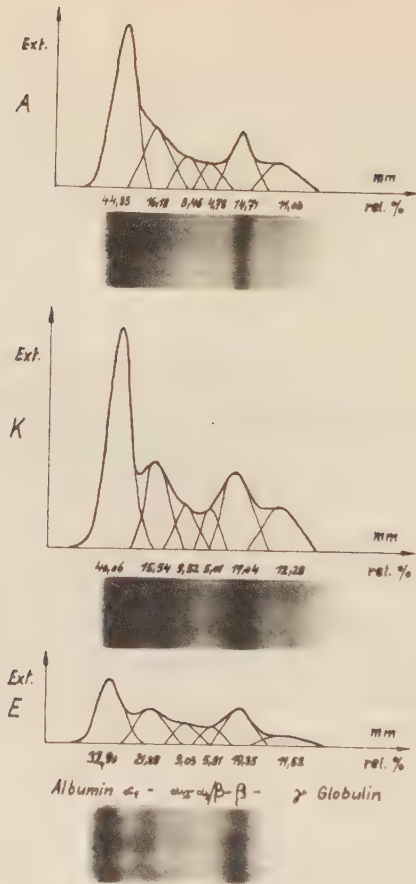


Abb.: 8 zeigt die papierelektrophoretischen Ergebnisse einer Ratte aus Gruppe B vor Versuchsbeginn (oben), zum Zeitpunkt der ersten Kontrolle (mitte), sowie am Ende des Versuchs (unten)

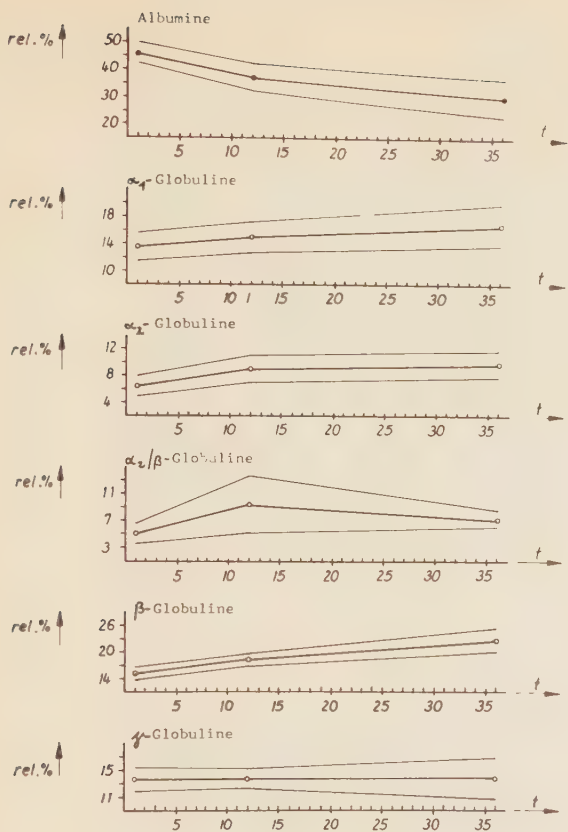


Abb.: 9 Verhalten der Serumeiweißkörper während des Sensibilisierungs- und Transplantationsversuchs bei den Ratten der Gruppe B (statistische Auswertung)

TABLE 1

|    | ANTI-TUMOR-SERUM VON KANINCHEN |           |          | TUMOR-EXTRAKT |           |          |
|----|--------------------------------|-----------|----------|---------------|-----------|----------|
|    | Assay                          | Kontrolle | Ergebnis | Assay         | Kontrolle | Ergebnis |
| 1  | Ø                              | 1 : 512   | 1 : 2    | Ø             | Ø         | Ø        |
| 2  | Ø                              | 1 : 1     | 1 : 1024 | Ø             | Ø         | Ø        |
| 3  | Ø                              | 1 : 1024  | 1 : 1024 | Ø             | Ø         | Ø        |
| 4  | Ø                              | 1 : 1024  | 1 : 1024 | Ø             | 1 : 4     | Ø        |
| 5  | 1 : 4                          | 1 : 512   | 1 : 512  | Ø             | Ø         | Ø        |
| 6  | Ø                              | 1 : 256   | 1 : 256  | Ø             | Ø         | Ø        |
| 7  | Ø                              | 1 : 1024  | 1 : 112  | Ø             | Ø         | 1 : 1    |
| 8  | Ø                              | 1 : 1024  | 1 : 512  | Ø             | Ø         | Ø        |
| 9  | Ø                              | 1 : 1024  | 1 : 1024 | 1 : 8         | Ø         | Ø        |
| 10 | Ø                              | 1 : 256   | 1 : 1024 | Ø             | Ø         | Ø        |
| 11 | Ø                              | 1 : 1024  | 1 : 512  | Ø             | Ø         | Ø        |
| 12 | Ø                              | 1 : 1024  | 1 : 512  | Ø             | Ø         | Ø        |
| 13 | Ø                              | 1 : 512   | 1 : 1024 | Ø             | Ø         | Ø        |
| 14 | 1 : 16                         | 1 : 512   | 1 : 512  | Ø             | Ø         | Ø        |
| 15 | Ø                              | 1 : 512   | 1 : 512  | Ø             | 1 : 10    | Ø        |
| 16 | Ø                              | 1 : 512   | 1 : 1024 | Ø             | Ø         | Ø        |
| 17 | Ø                              | 1 : 256   | 1 : 1024 | 1 : 4         | Ø         | Ø        |
| 18 | Ø                              | 1 : 512   | 1 : 256  | Ø             | Ø         | 1 : 8    |
| 19 | Ø                              | 1 : 1024  | 1 : 512  | Ø             | Ø         | Ø        |
| 20 | Ø                              | 1 : 1024  | 1 : 512  | Ø             | Ø         | Ø        |
|    |                                |           |          |               |           |          |

Tab.: 4 Passive Hämagglutinationsreaktion  
links: gegen Anti-Tumorserum vom Kaninchen  
rechts: gegen Tumorextrakt

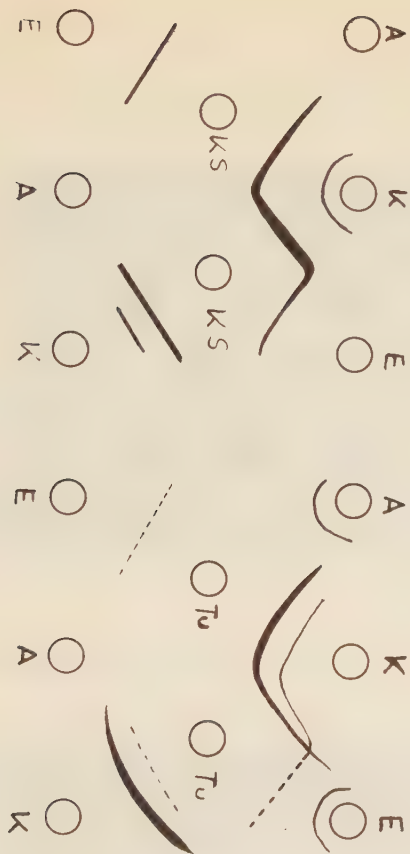
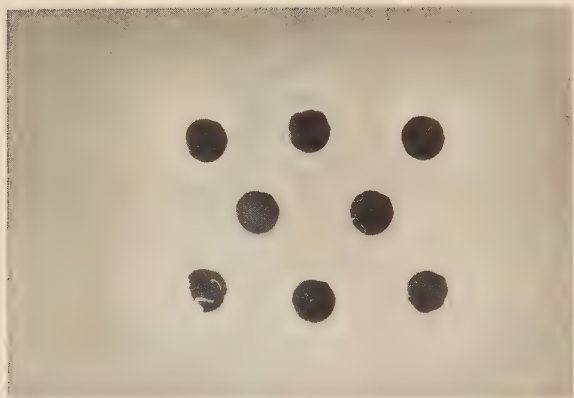


Abb.: 10 Zweidimensionale Immunodiffusion nach OUCHTERLONY bei Ansatz der Rattenserum gegen Anti-Tumorserum vom Kaninchen und Tumorhomogenat



eine Präzipitation, gegen die Kontrollwerte, als auch gegen die Endwerte eine deutliche Reaktion mit Nachweis bis zu 4 Eiweißsystemen. Bei gleichem Ansatz unter Verwendung des Tumorextraktes ergab sich gegen die die Kontrollwerte in allen Fällen eine Präzipitationslinie, gegen die Endwerte dagegen nur eine schwache Reaktion.

#### 4. Die immunoelektrophoretische Analyse

Die immunoelektrophoretischen Befunde entsprechen weitgehend denjenigen der Gruppe A, d.h. es konnte lediglich eine Dysproteinämie wahrgenommen werden ohne Nachweis etwa eines Paraproteinphänomens.

#### 5. Beobachtungen während des Versuches

- a) an den Transplantaten im besonderen,
- b) und an den Tieren im allgemeinen.

Die Tiere der Gruppe A, denen nach der 6. Impfung mit Anti-Tumor-Kaninchenserum YOSHIDA-Tumorzellen in die Nackenmuskulatur appliziert wurden, zeigten vom 5. bis zum 9. Tag post transplantationem ein Angehen der Zellen, d.h. man tastete zu diesem Zeitpunkt einen erbsengroßen bis kleinkirschkerngroßen Tumor von fester Konsistenz. Die Tumoren wuchsen unterschiedlich heran, bei 8 Tieren waren sie am 12. Tag post transplantationem walnußgroß. Ein Tier jedoch zeigte keine Reaktion. Zu diesem Zeitpunkt nahmen etliche der Ratten an Gewicht ab, begannen sich zu haaren und ihre Agilität zu vermindern. Am 14. Tag gingen die ersten 2, am 16. die nächsten 2, am 17. Tag 3 weitere, am 18. 20. 21. 22. 26. 28. je 2ine, am 31. drei, am 33. eine und am 40. Tag 2 ein; eine Ratte überlebte.

## DISKUSSION

Die vorliegenden Ergebnisse haben gezeigt, daß bei Ratten sowohl das Tumorstadium eines transplantablen Tumors, als auch die Überlebenszeit der Tiere durch die Behandlung mit spezifischem Anti-Tumorserum mit relativ hohem AK-Titer verzögert, bzw verlängert werden. Diese Versuchstiere überleben unvorbehandelte Ratten die einen Tumor haben etwa um das Doppelte der Lebenszeit; sie verhalten sich aber praktisch gleichartig wie andere Kontrolltiere, die allein Kaninchenserum ohne Tumorantikörper appliziert bekamen. Es besteht lediglich ein deutlicher Unterschied im Verhalten der Serumeiweißkörper, wobei die Ratten, die reines Kaninchenserum verabreicht bekamen und anschließend mit Tumorzellen inokuliert wurden, eine Hypalbuminämie mit relativ vermehrter  $\alpha$ - und  $\beta$ -Globuline, sowie eine deutlich faßbare Hypogammaglobulinämie zeigten; die Ratten aber, die mit Anti-Tumor-Kaninchenserum behandelt und danach Tumorzellen übertragen bekamen, keine Hypogammaglobulinämie aufwiesen.

Die relativ größere Überlebenszeit gegenüber tumortragenden Tieren ohne zusätzliche Serumbehandlung ist wahrscheinlich nicht als Ausdruck einer spezifischen immunologischen Hemmwirkung des Tumorstadiums zu deuten. Es handelt sich u.E. vielmehr um ein unspezifisches Retardierungsphänomen, welches wohl durch die aktive Sensibilisierung mit dem heterologen Kaninchenserum hervorgerufen wurde. Daß tatsächlich eine Sensibilisierung mit Kaninchenserum in Gang gekommen war, konnte durch den sicheren Nachweis agglutinie-

render und präzipitierender Antikörper gegen Kaninchenserum unter Beweis gestellt werden. Demgegenüber waren in keinem Fall Antitumor-Antikörper objektivierbar, was zwar für Gruppe B nicht überrascht, da durch die Behandlung mit spezifischem Tumorantiserum zirkulierende Tumorantigene neutralisiert worden wären und somit eine eigene Tumorantikörperbildung unterbunden hätten, für Gruppe B jedoch nicht ohne weiteres ausgeschlossen wäre.

Auf Grund früherer eigener Ergebnisse an den auch hier verwendeten rattentransplantablen Tumoren ( 5, 6, 10 ) konnten jedoch in keinem Fall spezifische Tumorantikörper objektiviert werden.

Die tiefgreifende Dysproteinämie ist vor allem gekennzeichnet durch den Tumortyp mit Hypalbuminämie und vorwiegender  $\gamma_2$ -Vermehrung. Der Effekt einer Sensibilisierung der etwa durch eine Gammaglobulinvermehrung offensichtlich würde, tritt in den vorliegenden Versuchsreihen nicht so deutlich zutage; dies ist damit zu erklären, daß Abwehrvorgänge der Ratte mit Bildung zirkulierender Antikörper in erster Linie mit einer Vermehrung der  $\beta$ -Globuline und erst in späteren Stadien mit einer Zunahme auch der Gammaglobuline einhergehen ( 2a ).

Die ungenügende Beeinflussung des Tumorwachstums unter der Behandlung der Ratten mit spezifischem Tumorantiserum kann darauf beruhen, daß trotz des hohen Antikörpertiters der verwendeten Immunsereen ein Mißverhältnis zwischen der Tumorstadiumswachstumsrate und der Konzentration spezifischer Antikörper bestand, eine Möglichkeit, die allenfalls durch

die Erfahrungen mit variierten Mengen von Immunseren, auszuschließen ist. Mit größerer Wahrscheinlichkeit ist der ungenügende Behandlungseffekt darin zu erblicken, daß eine Hemmung oder gar Abstoßung eines Tumortransplantats in erster Linie von der Aktivität spezifisch sensibilisierter Lymphozyten und nicht so sehr von der Existenz bzw Konzentration spezifisch zirkulierender Antikörper abhängig ist. Es bedarf infolgedessen der weiteren Prüfung, ob die passive Übertragung sensibilisierter Lymphozyten im Sinne der Transplantationsreaktion eine Abstoßung von Transplantaten eher bewirken als die Applikation eines spezifischen Antitumorserums. Auch hier muß selbstverständlich die Frage der Dosierung in verschiedenen Versuchsreihen berücksichtigt werden.

## ZUSAMMENFASSUNG

30 Albinoratten wurden in zwei Gruppen zu je 10 ( Gruppe A ) und 20 Tieren ( Gruppe B ) aufgeteilt. Gruppe A wurde mit frischem Serum unbehandelter Kaninchen sensibilisiert und Gruppe B mit spezifischem Anti-YOSHIDA-Serum vom Kaninchen. Jeweils nach der 6. Injektion wurde YOSHIDA Sarkom transplantiert, anschließend folgten 6 weitere Injektionen.

Die Rattenserumseren zeigten bei allen zwei Gruppen tiefgreifende Dysproteinämien mit Hypalbuminämie und Hypogammaglobulinämie in Gruppe A.

Zirkulierende Antikörper wurden in Gruppe A und B auf Grund der passiven Hämagglutinationsreaktion und der Agargel-Präzipitationsreaktion jeweils gegen Kaninchen-serum, in keinem Falle jedoch gegen Tumorphomogenat nachgewiesen.

In der Diskussion wurde die relativ größere Überlebenszeit gegenüber tumortragenden Tieren ohne zusätzliche Serumbehandlung als unspezifisches Retardierungsphänomen gedeutet.

# LITERATURVERZEICHNIS

1. BOYDEN, S.V.  
The adsorption of proteins on erythrocytes  
treated with tannic acid and subsequent hem-  
agglutination by antiprotein sera.  
J. Exp. Med. 93 , 107 (1951)
2. GÖTZ, H.
  - a) Serumeiweißveränderungen .....  
Dissertation, Erlangen 1955
  - b) Antigenität von Tumorproteinen.  
Habilitationsschrift, Erlangen 1968
3. GRABAR, P. et C.A. WILLIAMS
  - a) Méthode permettant l'étude conjuguée des  
propriétés électrophorétiques et immuno-  
chimiques d'un mélange de protéins:  
application au serum sanguin.  
Biochim. biophys. Acta 17 , 67 (1955)
  - b) Méthode immunoélectrophorétique d'analyse  
de mélanges de substances antigeniques.  
Biochim. biophys. Acta 17 , 67 (1955)

4. GRASSMANN, W., K. HANNIG und M. KNEDEL  
Über ein Verfahren zur elektrophoretischen  
Bestimmung der Serumproteine auf Filtrier-  
papier.  
Dtsch. med. Wschr. 76 , 333 (1951)
5. GÜNTHER, K.  
Serologische und fluoreszenzoptische Unter-  
suchungen an tumortragenden Ratten.  
( Transplantation von YOSHIDA tumoren )  
Dissertation, Erlangen 1967
6. KLOBE, U.  
Serologische und fluoreszenzoptische Unter-  
suchungen an tumortragenden Ratten.  
( Transplantation von WALKER tumoren )  
Dissertation, Erlangen 1967
7. LINDER, A.  
Statistische Methoden für Mediziner, Na-  
turwissenschaftler und Ingenieure.  
Birkhäuser Verlag Basel 1964
8. OUCHTERLONY, Ö.
  - a) Diffusion - in gel methods for immu-  
nological analyses.  
Prog. Allergy 5 , 1 (1958) Karger NY Basel
  - b) Gel-Diffusion-techniques.  
15. Coll. d. Ges. für. Physiol. Chemie  
Mosbach/Baden  
13 , 1965 Springer, Berlin-Heidelberg-New York

9. SCHEIDEGGER, J.J.

Une microméthode de l'immunoélectrophorèse.

Int. Arch. Allergy 7 , 103 (1955)

10. SCHEIFFARTH, F., H. WARNATZ, H. GÖTZ und  
M. ROHRWASSER

Immunologische Studien am Walker-Carcinom  
und Yoshida-Sarkom.

Z. Krebsforsch. 70 , 178 (1967)

Zum Schluß ist es mir eine angenehme Pflicht,  
Herrn Professor Dr. F. Scheiffarth für die  
Überlassung des Themas, sowie Frau Privatdo-  
zentin Dr. H. Götz für die freundlichen An-  
regungen und die liebenswürdige Unterstütz-  
ung bei meiner Arbeit meinen ergebensten  
Dank auszusprechen.

## LEBENS LAUF

Am 6. Januar 1939 wurde ich, Sieglinde H a a g , als Tochter des Metzgermeisters Eugen Haag ( +1951 ) und seiner Ehefrau Else, geb. Keitel ( +1951 ), in Crailsheim geboren. In Schillingsfürst, dem Wohnort meiner Eltern, trat ich 1945 in die Volksschule ein. Vom Herbst 1950 bis zum Sommer 1959 besuchte ich das Mädchenrealgymnasium in Neuendettelsau. Nach der Reifeprüfung war ich 2 Jahre Praktikantin in einer Apotheke in Fürth. Im Herbst 1961 legte ich die pharmazeutische Vorprüfung ab und begann mit dem Medizinstudium an der Friedrich-Alexander-Universität Erlangen-Nürnberg. Dort bestand ich im November 1964 das Physikum.

Nach dem ersten klinischen Semester in Erlangen folgte ein Auslandssemester an der Universität Wien. Die restlichen 4 Semester studierte ich wieder in Erlangen und am 3. Mai 1968 schloß ich mein Medizinstudium mit dem Staatsexamen ab.





**BUCH- UND FOTODRUCK  
LUDWIG MÖLLER  
ERLANGEN · FAHRSTR. 5**